中国生态农业学报 2017 年 6 月 第 25 卷 第 6 期
Chinese Journal of Eco-Agriculture, Jun. 2017, 25(6): 903−910

DOI: 10.13930/j.cnki.cjea.161041

付铄岚, 王昌全, 李冰, 徐强, 张敬昇, 李萌, 唐杰, 何玉亭, 沈杰, 曾杰熙, 严勋. 外源 Cd 在不同品种水稻组织中的细胞分布和化学形态特征研究[J]. 中国生态农业学报, 2017, 25(6): 903−910

Fu S L, Wang C Q, Li B, Xu Q, Zhang J S, Li M, Tang J, He Y T, Shen J, Zeng J X, Yan X. Histocyte distribution and cadmium forms in different rice cultivar seedlings with exogenous cadmium supply[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2017, 25(6): 903−910

外源 Cd 在不同品种水稻组织中的细胞分布和化学形态特征研究*

付铄岚, 王昌全**, 李 冰, 徐 强, 张敬昇, 李 萌, 唐 杰, 何玉亭, 沈 杰, 曾杰熙, 严 勋

(四川农业大学资源学院 成都 611130)

摘 要: 采用水培试验, 以低镉(Cd)积累水稻品种'D83A/R527'和高 Cd 积累水稻品种'福优 838'为供试材料, 设置 3 个 Cd 浓度(5 μmol·L^{-1}、10 μmol·L^{-1}、25 μmol·L^{-1})处理, 从 Cd 亚细胞及化学形态分布角度研究了不同基因型水稻品种的 Cd 积累特性, 为探讨水稻对 Cd 的吸收积累生理机制提供科学依据。结果表明: (1)水稻'D83A/R527'的根系和茎叶 Cd 含量及根系-茎叶转移系数均显著低于'福优 838'(P<0.05)。(2)两水稻根系各亚细胞组分中 Cd 含量表现为可溶部分(F3)>细胞壁(F1)>细胞器(F2), 茎叶表现为细胞壁(F1)>可溶部分(F3)>细胞器(F2); 'D83A/R527'根系和茎叶细胞壁 Cd 的质量分数(36.76%~51.75%)高于'福优 838'(31.29%~49.07%)。(3)两水稻品种 Cd 化学形态含量均表现为氯化钠提取态(F_{NaCl}-Cd)>醋酸提取态(F_{HAc}-Cd)>去离子水提取态(F_W-Cd)>乙醇提取态(F_E-Cd)>盐酸提取态(F_{HCl}-Cd); 随 Cd 处理浓度的增加, 'D83A/R527'根系 F_E-Cd 和 F_W-Cd(活性态 Cd)质量分数逐渐下降(24.75%~18.34%), '福优 838'活性态 Cd 逐渐上升(27.18%~28.68%), 茎叶 F_{HAc}-Cd 和 F_{HCl}-Cd(惰性态 Cd)质量分数(32.41%~38.98%)逐渐上升且高于'福优 838'(28.44%~31.22%), 'D83A/R527'根系和茎叶 F_{NaCl}-Cd 质量分数(32.71%~51.17%)均高于'福优 838'(32.14%~47.63%)。综上, 'D83A/R527'水稻幼苗 Cd 积累量低; 与'福优 838'相比, 'D83A/R527'水稻幼苗根系和茎叶细胞壁质量分数较高, "活性态"Cd 质量分数较低, "惰性态"Cd 则更高, 表明'D83A/R527'水稻对 Cd 有更强的固持能力。

关键词: 外源镉; 水稻; 亚细胞组分; 化学形态; 活性态镉; 惰性态镉
中图分类号: X171.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-3990(2017)06-0903-08

Histocyte distribution and cadmium forms in different rice cultivar seedlings with exogenous cadmium supply*

FU Shuolan, WANG Changquan**, LI Bing, XU Qiang, ZHANG Jingsheng, LI Meng, TANG Jie, HE Yuting, SHEN Jie, ZENG Jiexi, YAN Xun

(College of Resources, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract: A hydroponic experiment was conducted to study cadmium (Cd) accumulation characteristics in different rice genotypes — low

* 国家科技支撑计划项目(2012BAD14B18)和四川省科技支撑计划(2013NZ0028)资助
** 通讯作者: 王昌全, 主要从事土壤与环境可持续的研究。E-mail: w.changquan@163.com
付铄岚, 主要从事土壤质量与农产品安全的研究。E-mail: roxannyfu@163.com
收稿日期: 2016-11-19 接受日期: 2016-12-20
* This study was supported by the National Key Technologies R&D Program of China (2012BAD14B18) and the Key Technologies R&D Program of Sichuan Province (2013NZ0028).
** Corresponding author, E-mail: w.changquan@163.com
Received Nov. 19, 2016; accepted Dec. 20, 2016

Cd accumulation (‘D83A/R527’) and high Cd accumulation (‘Fuyou838’). The subcellular distribution and chemical forms of Cd in the root and shoot of different rice genotypes were investigated after exposure to Cd concentrations of 5 μmol·L^{-1}, 10 μmol·L^{-1} and 25 μmol·L^{-1}. The aim of the study was to explore subcellular distribution and chemical forms change of Cd in rice to provide reference for research on Cd absorption mechanisms of rice. The results showed that: 1) the concentrations of Cd in roots and shoots and the transfer rate in ‘D83A/R527’ were significantly lower than those in ‘Fuyou838’ ($P < 0.05$). 2) The contents of Cd in subcellular fractions of two rice cultivars were in the orders of soluble fraction (F3) > cell wall (F1) > organelle (F2) in roots, but cell wall (F1) > soluble fraction (F3) > organelle (F2) in shoots. The proportions of Cd in cell walls (36.76%–51.75%) in both roots and shoots of ‘D83A/R527’ were higher than those in ‘Fuyou838’ (31.29%–49.07%). 3) The order of contents of Cd chemical forms revealed by different processing methods was sodium chloride extraction state (F_{NaCl}-Cd) > acetic acid extractable state (F_{HAc}-Cd) > deionized water extraction (F_W-Cd) > ethanol extracted state (F_E-Cd) > HCl extractable state (F_{HCl}-Cd) in both cultivars. When Cd concentration increased, the proportions of F_E-Cd and F_W-Cd (active forms) from root of ‘D83A/R527’ declined gradually (24.75%–18.34%), but increased gradually in ‘Fuyou838’ (27.18%–28.68%). The percentages of F_{HAC}-Cd and F_{HCl}-Cd (inertia forms) in shoot of ‘D83A/R527’ (32.41%–38.98%) were higher than those in ‘Fuyou838’ (28.44%–31.22%). The proportions of F_{NaCl}-Cd in both root and shoot of ‘D83A/R527’ (32.71%–51.17%) were higher than those in ‘Fuyou838’ (32.14%–47.63%). In short, Cd accumulation in ‘D83A/R527’ was lower than that in ‘Fuyou838’. Then cell wall mass fractions of both root and shoot systems were higher in ‘D83A/R527’ than that in ‘Fuyou838’. Also there was lower accumulation of active forms of Cd and higher accumulation of inertia forms of Cd in ‘D83A/R527’ than that in ‘Fuyou838’. Therefore, rice cultivar ‘D83A/R527’ had a better Cd fixation capacity than ‘Fuyou838’.

Keywords: Exogenous cadmium; Rice; Subcellular distribution; Chemical form; Active form of cadmium; Inertia form of cadmium

水稻(*Oryza sativa*)是人类的主要粮食作物[1]，保障稻米安全是我国目前粮食安全的重要课题[2]。镉(Cd)是“五毒”元素之一，迁移能力较强，易通过植物富集从而污染食物链[3]。水稻对 Cd 具有较强的富集能力，容易造成稻米含量超标从而危害人体健康[4]。近年来我国 Cd 污染农耕地已达 1.3×10^4 hm^2，每年 Cd 污染农产品数量超过 1.5×10^5 t，涉及 11 个省市的 25 个地区[5]。大范围的农田 Cd 污染已经严重威胁到中国的粮食安全。因此降低水稻 Cd 吸收积累对保障我国粮食安全、提高人民生活品质具有重要的现实意义[6]。

水稻体内 Cd 积累受到根系的活化和吸收、细胞液泡区室化和滞留、木质部的装载和运输，以及茎叶之间的分配、韧皮部向籽粒中进一步迁移等多个生理过程影响[7]。研究表明，植物细胞壁上的纤维素、半纤维素和果胶等大分子物质能结合重金属进而将其固定[8]，当植物细胞壁上的重金属结合位点饱和时，原生质中的重金属会被转运至液泡，与大量的有机配位体结合形成稳定态的螯合物并被储藏，降低细胞质中自由重金属离子的浓度[9]；细胞液泡区室化过程与 Cd 化学形态密切相关[10]，不同化学形态的 Cd 的迁移、活性又存在显著差异[11-12]。Howden 等[13]研究发现，硫醇类结合态 Cd 与液泡区隔化有密切联系。目前对 Cd 亚细胞分布和化学形态的研究较多，但对比研究两者间相互影响效应的文献鲜有报道。因此，本文以前期试验中筛选出的 Cd 高积累水稻品种‘辐优 838’和低积累水稻品种‘D83A/R527’为供试材料，设置 3 个不同 Cd 浓度(5 μmol·L^{-1}、10 μmol·L^{-1}、25 μmol·L^{-1})处理，通过水培试验，研究水稻幼苗 Cd 亚细胞分布和化学形态变化及其相互影响关系，为探讨水稻对 Cd 的吸收积累生理机制提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验于 2015 年 5—7 月在四川农业大学网室内进行。供试材料选取本课题组筛选籽粒 Cd 质量分数差异较大的 2 个常规水稻品种‘辐优 838’(高 Cd 积累品种)和‘D83A/R527’(低 Cd 积累品种)为研究材料(四川农业大学水稻研究所提供)。

1.2 试验设计与处理

将精选的两水稻品种种子经 30% H_2O_2 消毒、洗净后育苗，10 d 后将长势一致的幼苗移植于容积为 15 L 的黑色塑料桶中。塑料桶被木板分隔成 4 个区域，在每个区域分别套 1 个塑料袋，再放置 1 个底部由尼龙网包裹的直径约 6 cm、高约 5 cm 去除底部的塑料杯，将其固定在适宜培养水稻的位置，每杯 5 株生长一致的株苗。将水稻培养于完全营养液中，营养液采用国际水稻研究所(IRRI)推荐的配方配制。营养液的起始 pH 为 5.5~6.0。幼苗先在 1/2 浓度的营养液中培养 7 d，然后进行全营养液培养和不同浓度的 Cd 处理。设置 3 个 Cd 处理水平：5 μmol·L^{-1}、10 μmol·L^{-1}和 25 μmol·L^{-1}，每个处理重复 3 次。营养液中 Cd 以 $CdCl_2·2.5H_2O$ 形式加入。培养液每 4 d 更换一次，每天用 0.1 mol·L^{-1} NaOH 或 0.1 mol·L^{-1} HCl 调节 pH 至

5.5~6.0。培养 20 d 收获。水稻根系先用自来水冲洗, 再用去离子水冲洗几遍, 再在 20 mmol·L^{-1} Na_2-EDTA 中浸泡 15 min, 用以去除根系表面吸附的二价 Cd 离子, 最后用纱布吸干表面水分。将根、叶分开后保存在−20 ℃冰箱中备用。

1.3　水稻幼苗亚细胞 Cd 含量的测定

亚细胞 Cd 含量的测定参考文献[14], 并进行改进: 分别称取水稻根、叶鲜样 1.0 g 左右, 加入 10 mL 亚细胞提取液——Tris-HCl 缓冲液(0.154 g·L^{-1} DTT, 0.25 mol·L^{-1}蔗糖溶液, pH 7.4, 料液比 1∶10), 在冰浴上迅速研磨成匀浆, 用漏斗、尼龙布过滤到离心管中, 尼龙布上的残渣(即细胞壁部分, F1)装入三角瓶中; 滤液装入离心管, 在 15 000 r·min^{-1}下离心 40 min, 将上清液和沉淀分别倒入三角瓶中, 则分别为可溶性部分(F3)、膜和细胞器部分(F2)。最后, 分别向所用三角瓶中加 4∶1 的硝酸和高氯酸的混合酸 10 mL(F2、F3)和 20 mL(F1), 待充分消化, 消煮至澄清, 蒸馏水定容, 用 MKii M6 型石墨炉原子吸收光谱仪(美国 Thermo Elemental 公司生产)测定 Cd 含量。

1.4　水稻幼苗 Cd 的化学形态分析

化学形态的测定参考 Wu 等[14]的方法并进行改进。准确称取 0.4 g 根、茎叶干燥样品于 100 mL 的塑料离心管中, 加入提取剂, 样品与提取剂的比例为 1∶100, 在 25 ℃恒温下浸泡 22 h 后, 25 ℃恒温振荡机震荡 1 h, 5 000 r·min^{-1}离心 10 min, 倒出上清液后, 再加入 10 mL 的提取剂, 振荡机振荡 1 h, 5 000 r·min^{-1}离心 10 min, 倒出上清液。合并两次上清液于 150 mL 的三角瓶中, 电炉上蒸发至近干, 加入硝酸和高氯酸的混合液(4∶1)10 mL, 待充分消解后, 消煮至澄清, 10%硝酸定容, 用美国 Thermo Elemental 公司生产的 MKii M6 型石墨炉原子吸收光谱仪测定 Cd 的含量。采用下列 5 种提取剂逐步提取: (a)80%乙醇提取硝酸盐、氯化物为主的无机盐及氨基酸盐等, 乙醇提取态 Cd(F_E-Cd); (b)去离子水提取水溶性有机酸盐、重金属的一代磷酸盐等, 水溶性 Cd(F_W-Cd); (c)1 mol·L^{-1}氯化钠提取果胶酸盐、与蛋白质结合态或呈吸附态的重金属等, 氯化钠提取态(F_{NaCl}-Cd); (d)2%醋酸提取难溶于水的重金属磷酸盐, 包括二代磷酸盐、正磷酸盐, 难溶性磷酸盐结合态 Cd(F_{HAC}-Cd); (e)0.6 mol·L^{-1}盐酸提取草酸盐, 草酸结合态 Cd(F_{HCl}-Cd)等。

1.5　数据分析

$$转移系数=茎叶\ Cd\ 含量/地下部\ Cd\ 含量 \quad (1)$$

所有数据采用 Microsoft Excel 2010 进行数据汇总和统计, 采用 SPSS 19.0 进行各个处理间差异显著性分析。

2　结果与分析

2.1　不同杂交水稻幼苗中的 Cd 含量及转移系数

图 1 显示, ‘D83A/R527’根系和茎叶的 Cd 含量显著低于‘辐优 838’(P<0.05)。各 Cd 浓度处理下, ‘辐优 838’茎叶 Cd 含量分别是‘D83A/R527’的 1.42 倍、1.93 倍和 1.79 倍, 根系 Cd 含量是‘D83A/R527’的 1.32 倍、1.60 倍和 1.49 倍。两水稻品种 Cd 吸收累积特性差异在茎叶体现更明显。

从图 2 可以看出, 两个水稻品种的转移系数位于 0.30~0.52, 不同 Cd 浓度处理下, ‘D83A/R527’转移系数均显著低于‘辐优 838’(P<0.05), 表明‘D83A/R527’ 对 Cd 的转运能力较差, 能减少 Cd 从根系到茎叶的运输。25 μmol·L^{-1} 处理时, 两水稻转移系数最低, 表明在高 Cd 浓度处理下根系对 Cd 的固持能力更强。

2.2　不同 Cd 浓度下水稻幼苗中 Cd 的亚细胞分布

如表 1 所示, 不同浓度 Cd 胁迫下, 两水稻品种根系亚细胞 Cd 含量分布均表现为可溶部分(F3)最多,

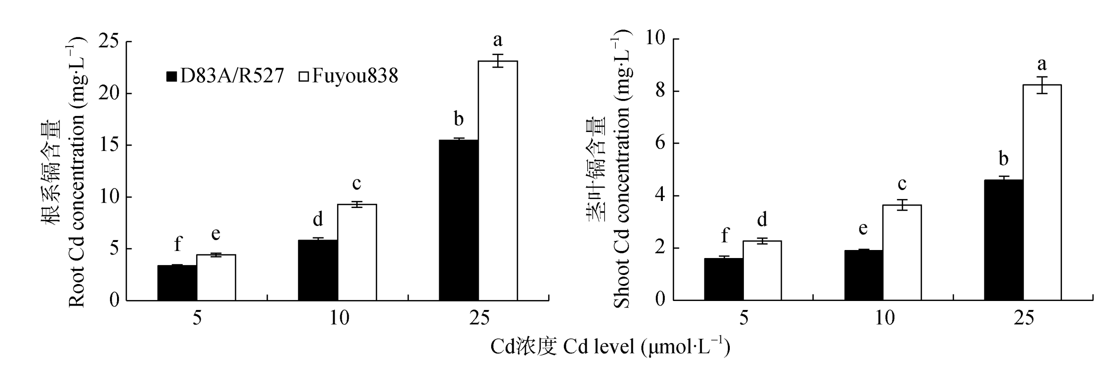


图 1　不同 Cd 浓度处理对水稻品种‘D83A/R527’和‘辐优 838’幼苗根系和茎叶 Cd 积累的影响

Fig. 1　Cadmium concentrations in roots and shoots of rice varieties ‘D83A/R527’ and ‘Fuyou838’ in different Cd levels

图中不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。Different lowercase letters in the figure show significant differences (P < 0.05).

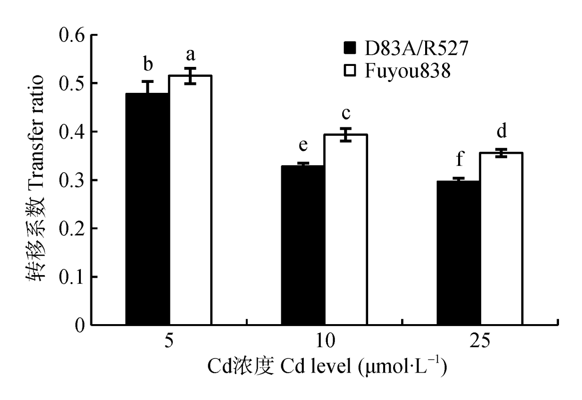


图 2　不同 Cd 浓度处理对水稻品种'D83A/R527'和'辐优838'幼苗根系-茎叶的 Cd 转移系数的影响

Fig. 2　Cadmium transfer ratios of rice varieties 'D83A/R527' and 'Fuyou838' in different Cd levels treatments

图中不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。Different lowercase letters in the figure show significant differences (P < 0.05).

细胞壁(F1)次之，细胞器(F2)最少。两水稻品种对比来看，'辐优 838'的 F3 Cd 含量均最高；5 μmol·L^{-1} Cd 处理下，'D83A/R527'的 F3 Cd 含量显著高于'辐优 838'中 F1 的 Cd 含量，在 10 μmol·L^{-1}、25 μmol·L^{-1} Cd 浓度处理下则相反。不同 Cd 浓度下，'D83A/R527'根系 F1 和 F3 中 Cd 质量分数高于'辐优 838'(图 3)，细胞器 Cd 质量分数低于'辐优 838'，表明 Cd 对'D83A/R527'根细胞的生命活动影响较小。随着 Cd 处理浓度的增加，'辐优 838'根系细胞壁 Cd 质量分数逐渐下降(32.55%~31.29%)，'D83A/R527'细胞壁 Cd 质量分数逐渐上升(36.76%~38.55%)，表明'D83A/R527'根系将 Cd 固定在细胞壁的能力强于'辐优 838'。

表 1　不同 Cd 浓度处理下水稻品种'D83A/R527'和'辐优 838'幼苗中 Cd 的亚细胞分布

Table 1　Subcellular distribution of cadmium in seedlings rice varieties 'D83A/R527' and 'Fuyou838' in different Cd levels

器官 Organ	Cd 浓度 Cd level (μmol·L^{-1})	Cd 含量 Cd concentration (mg·kg^{-1})					
		F1		F2		F3	
		D83A/R527	辐优 838 Fuyou838	D83A/R527	辐优 838 Fuyou838	D83A/R527	辐优 838 Fuyou838
根系 Root	5	1.13±0.01d	1.32±0.02c	0.35±0.00f	0.52±0.00e	1.58±0.04b	2.22±0.08a
	10	2.02±0.05d	2.74±0.01b	0.79±0.01f	1.42±0.01e	2.64±0.10c	4.53±0.00a
	25	5.60±0.07d	6.92±0.09b	2.23±0.02f	3.78±0.06e	6.70±0.07c	11.41±0.00a
茎叶 Shoot	5	0.77±0.04b	1.04±0.04a	0.22±0.01e	0.32±0.00d	0.49±0.01c	0.75±0.01b
	10	0.86±0.00c	1.56±0.03a	0.26±0.02f	0.46±0.01e	0.61±0.02d	1.31±0.00b
	25	2.02±0.00c	2.82±0.03b	0.54±0.00f	0.92±0.01e	1.69±0.01d	3.86±0.04a

F1：细胞壁部分；F2：细胞器部分；F3：可溶性部分。数据用 Mean±S.D. (n=3)表示。同行数据中不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。F1: cell wall fraction; F2: organelle fraction; F3: soluble fraction. Date are shown as Mean ± S.D. (n=3). Different lowercase letters in the same line show significant differences (P < 0.05).

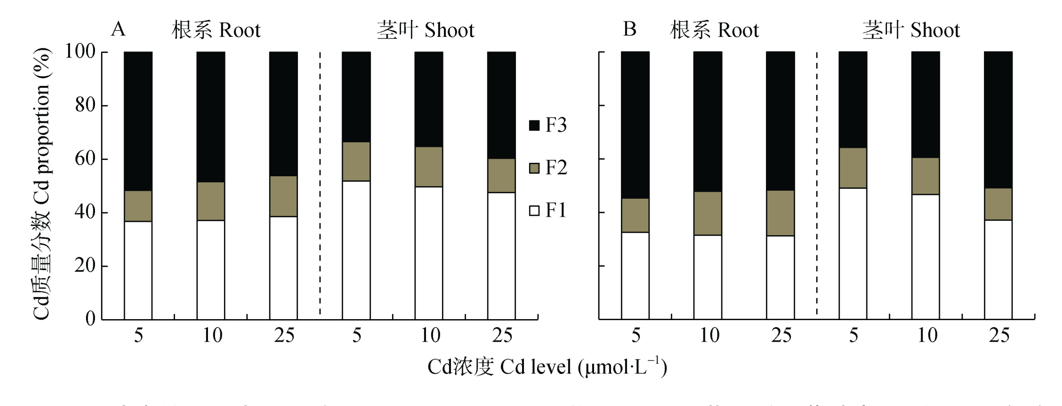


图 3　不同 Cd 浓度处理下水稻品种'D83A/R527'(A)和'辐优 838'(B)幼苗根系和茎叶中 Cd 的亚细胞质量分数

Fig. 3　Proportions of cadmium in subcellular fractions of roots and shoots of rice varieties 'D83A/R527' (A) and 'Fuyou838' (B) in different Cd levels treatments

F1：细胞壁部分；F2：细胞器部分；F3：可溶性部分。F1: cell wall fraction; F2: organelle fraction; F3: soluble fraction.

水稻幼苗茎叶 Cd 亚细胞分布与根系有较大差异。5 μmol·L^{-1}、10 μmol·L^{-1} Cd 浓度处理下，'辐优 838' F1 的 Cd 含量最高，F3 的 Cd 含量次之；25 μmol·L^{-1} Cd 处理时，'辐优 838'中 F3 的 Cd 含量最高，F1 次之。不同 Cd 浓度下，'D83A/R527'中 Cd 含量 F1>F3>F2。随着 Cd 处理浓度的增加，'D83A/R527'根系和茎叶 Cd 亚细胞含量上升幅度小于'辐优 838'，表现低 Cd 积累特征。各 Cd 浓度处理下，两水稻品种的茎叶表现为细胞壁 Cd 质量分数最高，且'D83A/R527'细胞壁质量分数(51.75%~47.52%)高于'辐优 838'(49.07%~37.05%)，表

明‘D83A/R527’能将大部分的 Cd 积累在细胞壁中。

2.3　不同 Cd 浓度下水稻幼苗中 Cd 的化学形态分布

不同 Cd 浓度胁迫下，水稻幼苗中不同 Cd 化学形态含量分布如表 2 所示。随 Cd 浓度增加，不同 Cd 化学形态含量均上升，‘辐优 838’各 Cd 化学形态含量均高于‘D83A/R527’。同一 Cd 浓度同一品种根系各 Cd 化学形态含量差异显著，具体表现为氯化钠提取态(F_{NaCl}-Cd)>醋酸提取态(F_{HAc}-Cd)>去离子水提取态(F_W-Cd)>乙醇提取态(F_E-Cd)>盐酸提取态(F_{HCl}-Cd)。茎叶部分各 Cd 化学形态与根系略有不同，5 μmol·L^{-1} Cd 浓度处理下，‘辐优 838’中 F_E-Cd、F_W-Cd 差异不显著，F_{NaCl}-Cd 最高，F_{HAc}-Cd 次之，F_{HCl}-Cd 最低；25 μmol·L^{-1} Cd 浓度处理下，F_{NaCl}-Cd、F_{HAc}-Cd 最高，其余各 Cd 化学形态含量差异显著，具体表现为 F_W-Cd>F_E-Cd>F_{HCl}-Cd。总的来说不同 Cd 浓度处理下，两水稻品种根系和茎叶 Cd 均以 F_{NaCl}-Cd、F_{HAc}-Cd、F_W-Cd 占主导地位，不同 Cd 浓度下两个品种 3 种形态的 Cd 含量平均值在根系中分别占 47.73%、23.35%、15.74%，在茎叶中分别占 34.63%、29.49%和 18.83%。相反，F_E-Cd 以及 F_{HCl}-Cd 含量相对较低，在不同浓度处理下两品种根系 Cd 含量平均值分别占 9.37%、3.80%，茎叶分别占 14.16%、2.89%。

如图 4 所示，随着 Cd 浓度上升，‘D83A/R527’根系 F_E-Cd 和 F_W-Cd 分配比例总体呈下降趋势(24.75%~18.34%)，‘辐优 838’则呈上升趋势(27.18%~28.68%)。5 μmol·L^{-1}、10 μmol·L^{-1} Cd 浓度下，‘D83A/R527’中 F_{HAc}-Cd 和 F_{HCl}-Cd 总体分配比例(24.08%、26.10%)低于‘辐优 838’(25.19%、27.19%)，在 25 μmol·L^{-1} 浓度处理下‘D83A/R527’中 F_{HAc}-Cd 和 F_{HCl}-Cd 分配比例之和(32.47%)高于‘辐优 838’(27.89%)，表明随 Cd 浓度增加，相对‘辐优 838’来说‘D83A/R527’根系被固定的 Cd 逐渐增加。不同浓度处理下，‘D83A/R527’茎叶中 F_{HAc}-Cd 和 F_{HCl}-Cd 总体分配比例(32.41%~38.98%)逐渐增加，且均高于‘辐优 838’(28.44%~31.22%)；F_W-Cd 和 F_E-Cd 总体分配比例(30.29%~28.31%)低于‘辐优 838’ (37.01%~36.02%)，表明‘D83A/R527’茎叶中 Cd 逐渐向移动性较弱形态的转化能力强于‘辐优 838’，降低 Cd 对水稻幼苗生理生化过程的干扰。两水稻幼苗中，F_{NaCl}-Cd 所占比例最高，且随着浓度增加均呈下降趋势，表明不同 Cd 处理浓度下 F_{NaCl}-Cd 可能在水稻 Cd 积累和解毒过程中起重要作用，F_{NaCl}-Cd 在根系的分布影响水稻幼苗 Cd 的积累。

表 2　不同 Cd 浓度处理下水稻幼苗中 Cd 的化学形态分布

Table 2　Cd contents in different extraction forms of rice seedlings of different varieties in different Cd levels treatments

器官 Organ	镉浓度 Cd level (μmol·L^{-1})	品种 Variety	镉含量 Cd concentration (mg·kg^{-1})					回收率 Recovery (%)
			F_E-Cd	F_W-Cd	F_{NaCl}-Cd	F_{HAc}-Cd	F_{HCl}-Cd	
根系 Root	5	D83A/R527	0.28±0.00d	0.46±0.02c	1.53±0.03a	0.65±0.01b	0.07±0.00e	91.68
		Fuyou838	0.35±0.02d	0.74±0.02c	1.91±0.03a	0.91±0.01b	0.10±0.00e	93.28
	10	D83A/R527	0.49±0.01d	0.78±0.01c	2.61±0.07a	1.18±0.04b	0.19±0.00e	92.54
		Fuyou838	0.81±0.01d	1.49±0.03c	3.78±0.00a	1.93±0.01b	0.34±0.01e	91.23
	25	D83A/R527	1.10±0.10d	1.51±0.05c	7.00±0.09a	3.80±0.02b	0.82±0.00e	92.64
		Fuyou838	2.46±0.02d	3.74±0.09c	9.39±0.04a	5.05±0.02b	0.98±0.00e	94.45
茎叶 Shoot	5	D83A/R527	0.20±0.01d	0.23±0.01c	0.55±0.02a	0.44±0.01b	0.03±0.00e	92.43
		Fuyou838	0.37±0.02c	0.39±0.01c	0.75±0.00a	0.56±0.02b	0.04±0.00d	93.65
	10	D83A/R527	0.22±0.01d	0.31±0.00c	0.63±0.02a	0.54±0.01b	0.05±0.00e	92.81
		Fuyou838	0.52±0.01d	0.72±0.00c	1.12±0.06a	0.93±0.00b	0.06±0.00e	93.01
	25	D83A/R527	0.45±0.02c	0.77±0.02b	1.41±0.02a	1.44±0.04a	0.24±0.02d	94.31
		Fuyou838	1.14±0.02d	1.63±0.02c	2.43±0.01a	2.12±0.04b	0.24±0.01e	92.58

F_E-Cd、F_W-Cd、F_{NaCl}-Cd、F_{HAc}-Cd 和 F_{HCl}-Cd 分别表示 80%乙醇、去离子水、1 mol·L^{-1} 氯化钠、2%醋酸和 0.6 mol·L^{-1} 盐酸提取的 Cd。数据用 Mean±S.D. (n=3)表示。同行数据中不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。回收率(%)=(F_E-Cd+F_W-Cd+F_{NaCl}-Cd+F_{HAc}-Cd+F_{HCl}-Cd)/总 Cd 含量×100%。F_E-Cd, F_W-Cd, F_{NaCl}- Cd, F_{HAc}-Cd and F_{HCl}-Cd respectively represented the Cd extracted by 80% ethanol, distilled water, 1 mol·L^{-1} NaCl, 2% HAC and 0.6 mol·L^{-1} HCl, respectively. Date are shown as Mean±S.D. (n=3). Different lowercase letters in the same line of data show significant differences (P < 0.05). Recovery (%) = (F_E-Cd + F_W-Cd + F_{NaCl}-Cd + F_{HAc}-Cd + F_{HCl}-Cd) / total Cd contents×100%.

3　讨论

3.1　不同杂交水稻品种幼苗 Cd 吸收转运差异分析

Cd 因其剧烈的生物毒性，对作物生理性能、产量和品质等影响极大[15]。本研究表明，水稻低镉积累品种‘D83A/R527’Cd 含量显著低于高镉积累品种‘辐优 838’，表明其受到 Cd 毒害较小。转移系数反映植物将重金属从根系转运到茎叶能力的强弱，转移

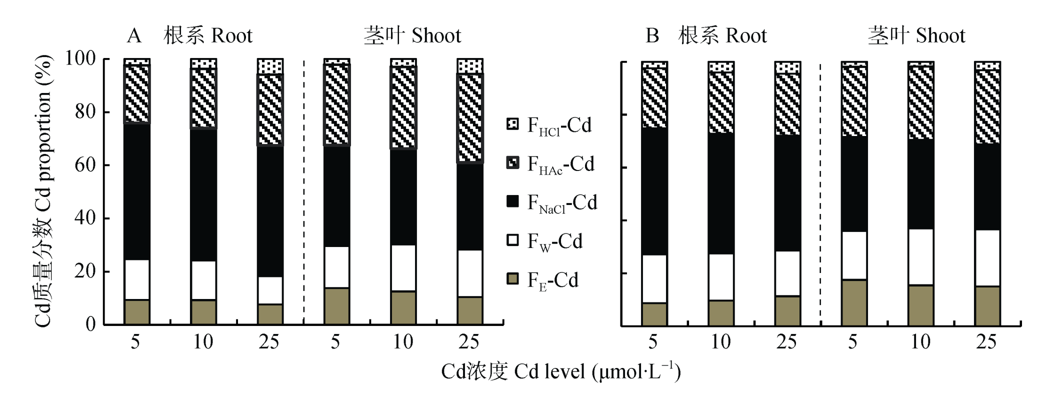


图 4 不同 **Cd** 处理浓度下水稻品种**‘D83A/R527’(A)**和**‘辐优 838’(B)**幼苗根系和茎叶中 **Cd** 的化学形态分布
Fig. 4 Proportions of Cd in different chemical forms of roots and shoots of rice varieties ‘D83A/R527’ (A) and ‘Fuyou838’ (B) in different Cd levels treatments

F_E-Cd、F_W-Cd、F_{NaCl}-Cd、F_{HAc}-Cd 和 F_{HCl}-Cd 分别表示 80%乙醇、去离子水、1 mol·L^{-1}氯化钠、2%醋酸和 0.6 mol·L^{-1}盐酸提取的 Cd。F_E-Cd, F_W-Cd, F_{NaCl}-Cd, F_{HAc}-Cd and F_{HCl}-Cd respectively represented the Cd extracted by 80% ethanol, distilled water, 1 mol·L^{-1} NaCl, 2% HAC and 0.6 mol·L^{-1} HCl, respectively.

系数越大，表明其转运重金属的能力越强[16-17]。本研究结果表明‘D83A/R527’将 Cd 从地下部转移到茎叶的能力显著低于‘辐优 838’，表明根系对 Cd 的截留能力更强，降低了Cd通过可食部位进入食物链的风险。这可能是因为不同基因型水稻幼苗化学形态以及亚细胞分布的不同，从而导致其对Cd吸收转移能力的差异。

3.2 不同杂交水稻幼苗中 Cd 的亚细胞分布

根是植物抵制重金属毒害的第一道屏障[18]，而细胞壁作为原生质体的第一道保护膜[19]，是保护原生质体不受重金属毒害的第一道屏障[20]。Cd被植物根系吸收后，带正电的Cd离子被细胞壁中带负电的亲Cd物质所吸附固定[10]，可以有效地减少细胞内游离的Cd离子[21]。本研究中，‘D83A/R527’根系细胞壁所占比例显著高于‘辐优838’，表明‘D83A/R527’根系细胞壁对Cd具有更强的固持能力，这是根部一个重要的亚细胞机制，导致不同基因型水稻品种茎叶Cd的积累差异，相似的结果在蚕豆(*Nasturtium officinale* L. R. Br.)[22]、小白菜(*Brassica chinensis* L.)[19]中均有报道。细胞壁的固定作用是应对Cd胁迫程度增大时的首要应对机制，张雯等[23]研究显示，Cd在不同处理条件下，细胞壁组分百分含量均表现为高Cd浓度>低Cd浓度。研究表明，植物吸收Cd后，将其大部分储存于根系可溶部分，其次是细胞壁，如小麦根系可溶部分Cd含量占58.5%~63.4%[24]，辣椒(*Capsicum annuum* L.)根系可溶部分Cd含量占77%~87%[25]。本试验也有类似结果，根系可溶部分Cd含量最高为46.12%~52.13%，其次为细胞壁(31.29%~38.55%)。‘D83A/R527’根系可溶部分Cd百分含量低于‘辐优838’，这是引起‘D83A/R527’的转移系数比‘辐优838’低的原因，与Yu等[26]报道低镉基因型水稻转移系数低于高镉基因型水稻类似。细胞壁因没有足够多的功能性多糖(如纤维素、半纤维素，果胶等)，其固定Cd的能力有限[27]，当Cd胁迫浓度增强时，细胞壁的Cd固定能力不足以阻止Cd进入原生质[22]，原生质的Cd大部分又被转移到液泡。Sylwia等[28]研究结果显示，野生烟草(*Nicotiana tabacum* L.)植物液泡中的Cd占原生质中Cd的92%。由此可看出，细胞壁和液泡是植物Cd积累的主要部位。本试验结果显示Cd大部分结合在细胞壁和可溶部分，与前人结果一致。随着Cd胁迫浓度增加，各亚细胞组分Cd总量也增加。‘辐优838’各亚细胞组分在3个浓度下增加幅度大部分均高于‘D83A/R527’，表现出高Cd积累特性。

3.3 Cd 在不同杂交水稻幼苗中的化学形态分布

植物体内的重金属活性、毒性和迁移能力与重金属在植物体内的化学形态有关[15]。不同化学提取剂提取不同化学形态Cd，无机态Cd(F_E-Cd，用80%乙醇提取)和水溶性Cd(F_W-Cd，用去离子水提取)有较高迁移能力，对植物细胞毒性较大，通常称为“活性态”；难溶性磷酸盐结合态Cd(F_{HAC}-Cd，用2%冰醋酸提取)和草酸结合态Cd(F_{HCl}-Cd，0.6 mol·L^{-1} HCl提取)较难移动，通常活性相对较低，毒性小，称为“惰性态”[15,21]。本试验结果显示，在高Cd浓度下，‘D83A/R527’根系“活性态”Cd含量以及百分含量低于‘辐优838’，“惰性态”Cd百分比例高于‘辐优838’，表明‘D83A/R527’根系吸收积累的Cd相对‘辐优838’难以移动。两种水稻中，醋酸提取态和盐酸提取态总体分配比例随着Cd胁迫的增大而增加，表明这两种化学形态与Cd解毒作用有关。“活性态”Cd比其他形

态的Cd更易从根系向茎叶运输, 这也可以解释为什么'辐优838'转移系数高于'D83A/R527', 相似结果在小白菜中也有相关报道[21]。

Cd与果胶/蛋白质结合(即果胶/蛋白结合态, 也称为氯化钠提取态, 由1 mol·L^{-1} NaCl溶液提取)可能是耐Cd植物低镉积累的重要过程[21]。Wu和Clemens等报道[14,29], 植物螯合肽(PCs)是一种谷胱甘肽, 与植物Cd的吸收、转运、解毒有关。与Qiu等[21]研究结果类似, 本试验所有Cd化学形态中, 氯化钠提取态Cd的百分比例最高, 表明其与水稻幼苗Cd吸收、转运、解毒有关。

已有研究报道, Cd的亚细胞分布与Cd在植物体内的化学形态存在必然联系。Jiang等[30]研究表明, 难溶性磷酸盐结合态Cd位于细胞壁上, 果胶/蛋白质结合态Cd主要位于液泡[21]。本试验结果与该结论吻合, 两水稻幼苗根系可溶部分Cd含量百分比与氯化钠提取态Cd含量百分比均最高, 细胞壁、难溶性磷酸盐结合态Cd均仅次之, 类似结果报道也见于蚕豆的研究中[22]。PCs在植物镉耐性中起关键作用[29]。Cd进入原生质后, 低分子量的PC-Cd配合物可进入液泡, 然后在液泡中与S^{2-}合成高分子PC-Cd螯合物, 最终形成细胞内Cd的区隔化, 因此, 低Cd积累品种中果胶/蛋白质结合态Cd的百分含量高于高Cd积累品种[21]。这可能与低Cd积累品种中Cd流动性低有关。

4　结论

与'辐优 838'相比, 'D83A/R527'水稻 Cd 积累量低, 且具有较低的 Cd 转移特性。亚细胞分析表明,'D83A/R527'各亚细胞 Cd 含量均低于'辐优 838', 其根系细胞壁质量分数高于'辐优 838', 可溶部分和细胞器质量分数低于'辐优 838', 茎叶可溶部分 Cd 质量分数低于'辐优 838', 表明'D83A/R527'根系截留 Cd 的能力更强, 向地上部转移的 Cd 更低。化学形态结果显示'D83A/R527'幼苗"惰性态"Cd 质量分数高于'辐优 838', "活性态"Cd 质量分数低于'辐优 838', 表明'D83A/R527'体内 Cd 较'辐优 838'更难迁移。

氯化钠提取态(果胶/蛋白质结合态)在两水稻品种中所占质量分数最高, 是水稻体内重要的 Cd 解毒形态。'D83A/R527'水稻 Cd 积累量低, 根系细胞壁对 Cd 截留能力强; 其根系"活性态"Cd 质量分数低于'辐优 838', 茎叶"活性态"Cd 质量分数低于'辐优 838'且"惰性态"Cd 分配比例更高, 从而'D83A/R527'水稻对 Cd 的固持能力强于'辐优 838'。

参考文献 References

[1] 沙之敏, 袁婧, 赵峥, 等. 水稻种植模式对水稻籽粒离子组的影响[J]. 中国生态农业学报, 2016, 24(5): 600–607
Sha Z M, Yuan J, Zhao Z, et al. Ionome of rice seed response to rice cultivation patterns[J]. Chinese Journal of Eco- Agriculture, 2016, 24(5): 600–607

[2] 李虹颖, 唐杉, 王允青, 等. 硒对水稻镉含量及其在亚细胞中的分布的影响[J]. 生态环境学报, 2016, 25(2): 320–326
Li H Y, Tang S, Wang Y Q, et al. Mechanism of Se on Cd content and subcell distribution in rice[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2016, 25(2): 320–326

[3] 吴朝波, 王蕾, 郭建春, 等. 镉在海雀稗体内的分布及化学形态特征[J]. 环境化学, 2016, 35(2): 330–336
Wu C B, Wang L, Guo J C, et al. Distribution and chemical forms of Cd in *Paspalum vaginatum* SW.[J]. Environmental Chemistry, 2016, 35(2): 330–336

[4] 尹洁, 赵艳玲, 徐莜, 等. 锌对粳稻幼苗镉吸收转运特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(5): 834–841
Yin J, Zhao Y L, Xu Y, et al. Effects of zinc supply on absorption and translocation of cadmium in rice seedlings[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2016, 35(5): 834–841

[5] 徐良将, 张明礼, 杨浩. 土壤重金属镉污染的生物修复技术研究进展[J]. 南京师大学报: 自然科学版, 2011, 34(1): 102–106
Xu L J, Zhang M L, Yang H. Research progress of bioremediation technology of cadmium polluted soil[J]. Journal of Nanjing Normal University: Natural Science Edition, 2011, 34(1): 102–106

[6] 李冰, 王昌全, 李枝, 等. Cd 胁迫下杂交水稻对 Cd 的吸收及其动态变化[J]. 生态环境学报, 2014, 23(2): 312–316
Li B, Wang C Q, Li Z, et al. Absorption of Cd by hybrid rice under the Cd stress and its dynamic change[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2014, 23(2): 312–316

[7] 李鹏, 葛滢, 吴龙华, 等. 两种籽粒镉含量不同水稻的镉吸收转运及其生理效应差异初探[J]. 中国水稻科学, 2011, 25(3): 291–296
Li P, Ge Y, Wu L H, et al. Uptake and translocation of cadmium and its physiological effects in two rice cultivars differed in grain cadmium concentration[J]. Chinese Journal of Rice Science, 2011, 25(3): 291–296

[8] Francine M K, Louise W A, Pythagore F S, et al. Antioxidant properties of cell wall polysaccharides of *Stevia rebaudiana* leaves[J]. Journal of Coastal Life Medicine, 2014, 2(12): 962–969

[9] Brunetti P, Zanella L, De Paolis A, et al. Cadmium-inducible expression of the ABC-type transporter *AtABCC3* increases phytochelatin-mediated cadmium tolerance in *Arabidopsis*[J]. Journal of Experimental Botany, 2015, 66(13): 3815–3829

[10] 黄白飞, 辛俊亮. 植物积累重金属的机理研究进展[J]. 草业学报, 2013, 22(1): 300–307
Huang B F, Xin J L. Mechanisms of heavy metal accumulation in plants: A review[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2013, 22(1): 300–307

[11] Devriese M, Tsakaloudi V, Garbayo L, et al. Effect of heavy metals on nitrate assimilation in the eukaryotic microalga *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2001, 39(5): 443–448

[12] Hart J J, Welch R M, Norvell W A, et al. Characterization of cadmium binding, uptake, and translocation in intact seedlings of bread and durum wheat cultivars[J]. Plant Physiology, 1998, 116(4): 1413–1420

[13] Howden R, Goldsbrough P B, Andersen C R, et al. Cadmium-sensitive, *cad1* mutants of *Arabidopsis thaliana* are phytochelatin deficient[J]. Plant Physiology, 1995, 107(4): 1059–1066

[14] Wu F B, Dong J, Qian Q Q, et al. Subcellular distribution and chemical form of Cd and Cd-Zn interaction in different barley genotypes[J]. Chemosphere, 2005, 60(10): 1437–1446

[15] 白雪, 陈亚慧, 耿凯, 等. 镉在三色堇中的积累及亚细胞与化学形态分布[J]. 环境科学学报, 2014, 34(6): 1600–1605
Bai X, Chen Y H, Geng K, et al. Accumulation, subcellular distribution and chemical forms of cadmium in *Viola tricolor* L.[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2014, 34(6): 1600–1605

[16] 李云, 张世熔, 张少卿, 等. 野茼蒿对镉的富集及其镉耐性[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(7): 1296–1302
Li Y, Zhang S R, Zhang S Q, et al. Cadmium tolerance and accumulation characteristics of *Crassocephalum crepidioides*[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2012, 31(7): 1296–1302

[17] 陆仲烟, 刘仲齐, 宋正国, 等. 大麦中镉的亚细胞分布和化学形态及 PCs 合成的基因型差异[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(11): 2125–2131
Lu Z Y, Liu Z Q, Song Z G, et al. Subcellular distribution and chemical forms of Cd and the synthesis of Phytochelatins (PCs) in different barley genotypes[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2013, 32(11): 2125–2131

[18] 曲荣辉, 张曦, 李合莲, 等. 不同锌水平对低剂量镉在水稻中迁移能力的影响[J]. 中国生态农业学报, 2016, 24(4): 517–523
Qu R H, Zhang X, Li H L, et al. Effects of zinc level on low dose cadmium transport in rice plant[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2016, 24(4): 517–523

[19] Xue M, Zhou Y H, Yang Z Y, et al. Comparisons in subcellular and biochemical behaviors of cadmium between low-Cd and high-Cd accumulation cultivars of pakchoi (*Brassica chinensis* L.)[J]. Frontiers of Environmental Science & Engineering, 2014, 8(2): 226–238

[20] Fan J L, Wei X Z, Wan L C, et al. Disarrangement of actin filaments and Ca^{2+} gradient by $CdCl_2$ alters cell wall construction in *Arabidopsis thaliana* root hairs by inhibiting vesicular trafficking[J]. Journal of Plant Physiology, 2011, 168(11): 1157–1167

[21] Qiu Q, Wang Y T, Yang Z Y, et al. Effects of phosphorus supplied in soil on subcellular distribution and chemical forms of cadmium in two Chinese flowering cabbage (*Brassica parachinensis* L.) cultivars differing in cadmium accumulation[J]. Food and Chemical Toxicology, 2011, 49(9): 2260–2267

[22] Wang J B, Su L Y, Yang J Z, et al. Comparisons of cadmium subcellular distribution and chemical forms between low-Cd and high-Cd accumulation genotypes of watercress (*Nasturtium officinale* L. R. Br.)[J]. Plant and Soil, 2015, 396(1/2): 325–337

[23] 张雯, 林匡飞, 周健. 不同硫浓度下叶面施硒对水稻幼苗镉的亚细胞分布及化学形态的影响[J]. 农业环境科学学报, 2014, 33(5): 844–852
Zhang W, Lin K F, Zhou J. Effects of selenium foliar spray on subcellular distribution and chemical forms of cadmium in rice seedlings in different sulfur concentrations[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2014, 33(5): 844–852

[24] 万敏, 周卫, 林葆. 镉积累不同类型的小麦细胞镉的亚细胞和分子分布[J]. 中国农业科学, 2003, 36(6): 671–675
Wan M, Zhou W, Lin B. Subcelluar and molecular distribution of cadmium in two wheat genotypes differing in shoot/root Cd partitioning[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2003, 36(6): 671–675

[25] Xin J L, Huang B F. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in two hot pepper cultivars differing in cadmium accumulation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(2): 508–515

[26] Yu H, Xiang Z X, Zhu Y, et al. Subcellular and molecular distribution of cadmium in two rice genotypes with different levels of cadmium accumulation[J]. Journal of Plant Nutrition, 2012, 35(1): 71–84

[27] Fu X P, Dou C M, Chen Y X, et al. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in *Phytolacca americana* L.[J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 186(1): 103–107

[28] Sylwia W, Anna R, Ewa B, et al. The role of subcellular distribution of cadmium and phytochelatins in the generation of distinct phenotypes of AtPCS1-and CePCS3-expressing tobacco[J]. Journal of Plant Physiology, 2010, 167(12): 981–988

[29] Clemens S. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants[J]. Biochimie, 2006, 88(11): 1707–1719

[30] Jiang H M, Yang J C, Zhang J F. Effects of external phosphorus on the cell ultrastructure and the chlorophyll content of maize under cadmium and zinc stress[J]. Environmental Pollution, 2007, 147(3): 750–756